

Tartu Ülikool
Loodus- ja täppiseaduste valdkond
Keemia instituut

Kati Vahter

**Regioselektiivse Fmoc- ja Z-kaitstud asa-Trüptofaani prekursorite
sünteesimeetodi väljatöötamine ja optimeerimine**

Bakalaureuse töö (12 EAP)

Juhendaja: Anton Mastitski, MSc

Tartu 2018

Infoleht

Regioselektiivse Fmoc- ja Z-kaitstud asa-Trüptofaani prekursorite sünteesimeetodi väljatöötamine ja optimiseerimine

Antud töö eesmärgiks oli Fmoc- ja Z-kaitstud asa-Trüptofaani prekursorite regioselektiivse sünteesimeetodi väljatöötamine ning optimiseerimine. Tehtud katsete tulemused näitasid, et kaitstud hüdrasooni protoneerimine 1 ekvivalendi HCl-iga on piisav saavutamaks senisest palju paremaid saagiseid. HCl-i ülehulgas kasutamine aga toob esile polümeriseerumise ning seetõttu saagise languse. Optimaalseteks reaktsioonitingimusteks Fmoc-NHNH₂ puhul oli 3 h ning 3 ekvivalendi BH₃*THF kompleksi kasutamine. Z-NHNH₂ korral aga 1 h ning 3 ekvivalendi sama redutseerija kasutamine oli optimaalne.

Märksõnad: asa-peptiid, asa-aminohappe prekursor, BH₃-THF kompleks, asa-trüptofaan, hüdrasiin, kaitstud hüdrasiin, redutseeriv alküülimine.

P390 – Orgaaniline keemia

The design and optimization of a regioselective method for the synthesis of Fmoc- and Z-protected aza-Tryptophan precursors

The given thesis was conducted to research regioselective synthesis of Fmoc- and Z-protected aza-tryptophan precursors and to optimize that process. The results of the optimization showed that with the addition of 1 equivalent of HCl as a proton donor we can readily produce a much better yield than has been achieved so far in the synthesis of such compounds. However, using an excess of HCl will lead to polymerization and thus a decrease in yield. Optimal conditions turned out to be 3 h reduction time and the use of 3 equivalents of BH₃*THF complex in the case of Fmoc-NHNH₂ and for Z-NHNH₂ 1 h, paired with 3 equivalents of the same reducing agent.

Keywords: azapeptide, aza-amino acid precursor, BH₃-THF complex, aza-tryptophan, hydrazine, protected hydrazine, reductive alkylation.

P390 - Organic chemistry

Sisukord

Infoleht	2
Lühendid	5
1. Sissejuhatus	6
2. Kirjanduse ülevaade.....	7
2.1 Hüdrasiinid, nende põhilised sünteesimeetodid ja tähtsamad rakendused.....	7
2.2 Hüdrasiinide süntees.....	9
2.3 Asa-trüptofaan ning selle süntees.....	16
3. Eksperimentaalne osa.....	18
3.1 Kasutatud aparatuur.....	18
3.2 Reaktiivide ja solventide füüsikalised omadused.....	18
3.3 Sünteeside skeemid	19
3.3.1 Fmoc-NHNH ₂ ja Z-NHNH ₂ süntees.....	19
3.3.2 Indool-3-aldehüüdi süntees.....	20
3.3.3 N-Boc-Indool-3-aldehüüdi süntees.....	20
3.3.4 N N-Fmoc- ja N-Z-asa-Trp(Boc) prekursorite sünteesi üldine skeem	20
3.4 Üldised sünteesimeetodid, solventide ettevalmistus ja sünteesitud ainete iseloomustused	21
3.4.1 THF kuivatamine	21
3.4.3 Fmoc-NHNH ₂ süntees	21
3.4.4 Z-NHNH ₂ süntees.....	22
3.4.5 Indool-3-aldehüüdi süntees.....	23
3.4.6 N-Boc-indool-3-aldehüüdi süntees.....	23
3.4.7 N-Fmoc- ja N-Z-asa-Trp(Boc) prekursorite sünteesi üldine meetod erinevates tingimustes.....	24

4. Tulemused ja nende arutelu	26
4.1 Fmoc- ja Z-hüdrasiini (Fmoc-NHNH ₂ , 13a; Z-NHNH ₂ , 13b) süntees.....	26
4.2 Indool-3-aldehüüdi (14a) süntees	27
4.3 N-Boc-indool-3-aldehüüdi süntees.....	27
4.3 N-Fmoc- ja N-Z-asa-Trp(Boc) prekursorite süntees	27
Kokkuvõte.....	32
Summary	33
Tänuavaldus	34
Kasutatud kirjandus	35
Lisa.....	40

Lühendid

ACN	atsetonitriil
AcOH	äädikhape
Alloc	allüüloksükarbonüül
Bn	bensüül-
Boc	tert-butüüloksükarbonüül
Z	bensüüloksükarbonüül
DCM	diklorometaan
DiPEA	N,N'-diisopropüületüülamiin
EA	etüülatsetaat
EtOH	etanool
Fmoc	9-fluorenüülmetüüloksükarbonüül-
IP	infrapunasektspektroskoopia
Kt	keemistemperatuur
Me	metüül
PE	petrooleeter
PG	kaitserühm (<i>protecting group</i>)
Rt	toatemperatuur
St	sulamistemperatuur
t-Bu	tert-butüül
TEA	trietüülamiin
TFA	trifluoroäädikhape
THF	tetrahüdrofuraan
TMR	tuumamagnetresonants
TLC	planaarkromatograafia (<i>thin layer cromatography</i>)
Vv	veevaba

1. Sissejuhatus

Hüdrasiini orgaanilised derivaadid, sh. ka asa-peptiidid on leidnud laia kasutust erinevate ravimite toimeainetena ning pakuvad huvi ka tulevaste preparaatide väljatöötamisel. Eriti huvitavaks ja perspektiivseks asa-peptiidide omaduseks on nende suur metaboolne vastupidavus võrreldes looduslike peptiididega. Kahjuks on nende sünteesiks vajalikud asa-aminohapped ebastaabiilsed, mistõttu toimub asa-peptiidide süntees läbi vastavate hüdrasiini derivaatidest prekursorite. Seetõttu on täiendavaks huviorbiidiks kaitstud hüdrasiinide süntees ja alküülimine. Reeglina sünteesitakse vajalikke prekursoreid kasutades redutseerivat hüdrasiinide alküülimist karbonüülühenditega ning vähesemal määral otsest alküülimist alküülhalogeniididega. Redutseeriv alküülimine on aga raskendatud aromaatsete ja heterotsükliiliste aldehüüdide hüdrasoonide puhul ning vajab hüdrogeenimist kasutades kalleid väärismetalle sisaldavatel katalüsaatoritel (nt Pd/C ja Pd(OH)₂/C). On olemas andmeid ka asa-Phe, asa-Tyr ja asa-Trp prekursorite sünteesi kohta kaitstud hüdrasiinide alküülimise teel. Meetodit raskendas asa-Trp sünteesi jaoks vajaliku halogeniidi mitmeetapiline süntees. Eelpool mainitud raskused loovad vajaduse paremate, mugavamate ja lihtsamate meetodite järgi.

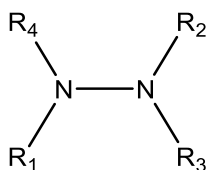
Käesolev töö tegeleb ühe sellise meetodi väljatöötamisega ja optimeerimisega.

2. Kirjanduse ülevaade

2.1 Hüdrasiinid, nende põhilised sünteesimeetodid ja tähtsamad rakendused.

Hüdrasiin (N_2H_4) on lihtsaima struktuuriga diamiin, mis omab otsest N-N sidet. Tegu on ammoniaagi lõhnalise värvitu õlija vedelikuga, millel on nõrgalt aluselised ja tugevad redutseerivad omadused. Ta energiliselt reageerib paljude oksüdeerijatega ning koos lihtsamate alküülderivaatidega leiab kasutust raketikütusena. [1] Hüdrasiini redutseerivad omadused on leidnud kasutust ka elektrijaamade jahutusvetes sidumaks oksüdeerivaid agente ja alandamaks lahustunud hapniku taset. [2]

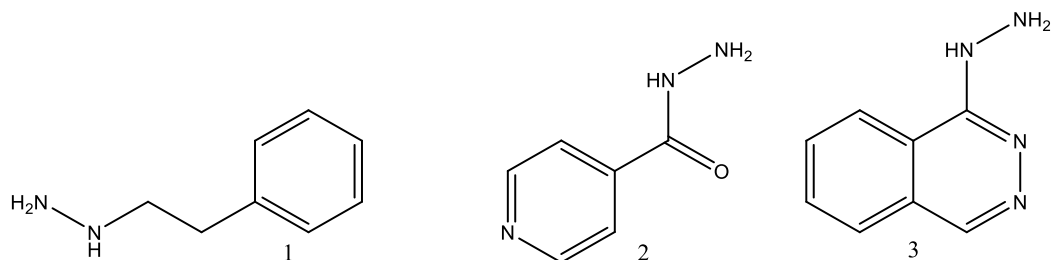
Hüdrasiin on bifunktsionaalne ja tugev nukleofiil, mis omab kahte identset reaktsioonitsentrit. [1,3] Sellest tulenevalt saab hüdrasiini modifitseerida asendades mõnda selle 4-st H-st ja konstrueerida terve rea erinevaid derivaate. (**Skeem 1**)[1]



Skeem 1. Hüdrasiinide üldstruktuur. R= H, PG, alküül, arüül jne

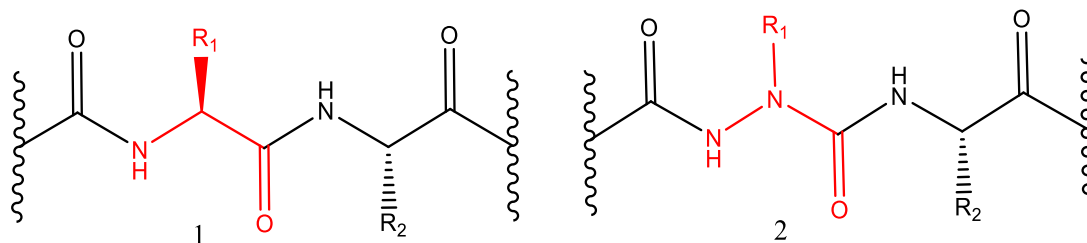
Hüdrasiinil ning selle derivaatidel on väga mitmekülgsed kasutusala. Nimelt, on hüdrasiin ja selle lihtsamad alküülderivaadid laialt kasutatavad ehituskividenä orgaanilises sünteesis (näiteks pürasoolide ja asendatud indoolide valmistamiseks) [4], polümerisatsioonprotsessides [5], ning hüdrasiinil põhinevad heterotsüklilised struktuurid esinevad paljudes fungitsiidides, [6] herbitsiidides [7] ja muudes biokatiivsetes ühendites, sh. ka ravimites. [1]

Hüdrasiini fragmenti sisaldavate ravimite näideteks võib tuua tuberkuloosi ravimeid, [8] mõningad antidepressante, [9,10] rinnaangiini [11] ja hüpertensiooni ravimeid [12] ning vähi kemoteraapias kasutatavaid preparaate. [13] **Skeemil 2** on toodud mõnede hüdrasiinil põhinevate ravimite struktuurid.



Skeem 2. Mõned hüdrasiinil põhinevad ravimid: 1 - fenelsiin (antidepressant), 2 - isoniasiid (tuberkuloosi ravimi toimeaine), 3 - hüdralasiin (hüpertensiooni ravimi toimeaine)

Lisaks ülalmainitud rakendustele leiavad hüdrasiinid kasutust ka modifitseeritud peptiidide valmistamisel. Hüdrasiini fragmenti sisaldavate peptidomimeetikute (asa-peptiidide) süntees ühendab endas peptiidide sünteesi ja hüdrasiiniderviaatide keemiat. [14] Asa-peptiidid on tavapeptiidide analoogid, kus üks või mitu α -süsinikku on asendatud lämmastikuga. (**Skeem 3**) [14,15] Asa-peptiididele vastavaid hüdrasiinidervaate kasutatakse prekursoritena, kuna asa-aminohapped ise on ebastabiilsed (toimub iseeneslik dekarboksüleerumine). [16,17]



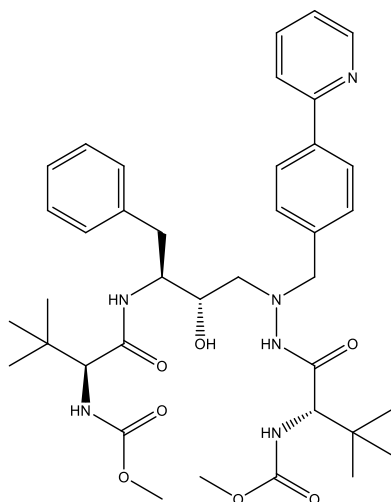
Sk

eeem 3. 1 - peptiid ; 2 - asa-peptiid

Sellise struktuurimodifikatsiooni tulemusel saavutatakse uued, vähem lineaarsed konformatsioonid, mis võrreldes sarnaste looduslike peptiididega on tihti retseptorite suhtes selektiivsemad ja metaboolselt stabiilsemad [14], pidades paremini vastu nii keemilisele kui ka ensümaatilisele hüdrolyüsile.[15]

Eelmainitud põhjustel on asa-peptiidid huvipakkuvad ravimikandidaadid. [14] On uuritud nende mõju toimeainena hepatiidi [18], AIDSi[19] ja SARSi[20] ravis. Üheks konkreetseks näiteks on

Atazanavir, mida kasutatakse antiretroviirusravimina (**Skeem 4**).



Skeem 4. Bioaktiivne asa-peptiid (Atazanavir, antiretroviirusravim)

2.2 Hüdrasiinide süntees

Asendamata hüdrasiini saab toota väga paljudel erinevatel meetoditel. Parimaid tulemusi annab ammooniaagi oksüdeerimine, kus oksüdeerijana üldiselt kasutatakse klooriühendeid, hapnikku või vesinikperoksiidi. (**Skeem 5**) [21]



Skeem 5. Ammoniaagi reaktsioon vesinikperoksiidiga

Ajalooliselt sünteesiti esimesed asendatud hüdrasiinid enne kui hüdrasiin ise. Nende valmistamine põhines uue N-N sideme loomisel. Näiteks töödeldes aromaatsed amiine HNO_2 -ga, saadi diasooniumsoolad, mis redutseerimisel annavad vastava fenüülhüdrasiini.

Diasooniumsoolad on aga stabiilsed vaid madalatel temperatuuridel ning tahkel kujul on nad plahvatusohtlikud. Hüdrasiine saab valmistada ka sekundaarsete amiinide nitroseerimisel saadud nitrosamiinide redutseerimisel. Paraku on paljud nitrosamiinid kantserogeensed. [4]

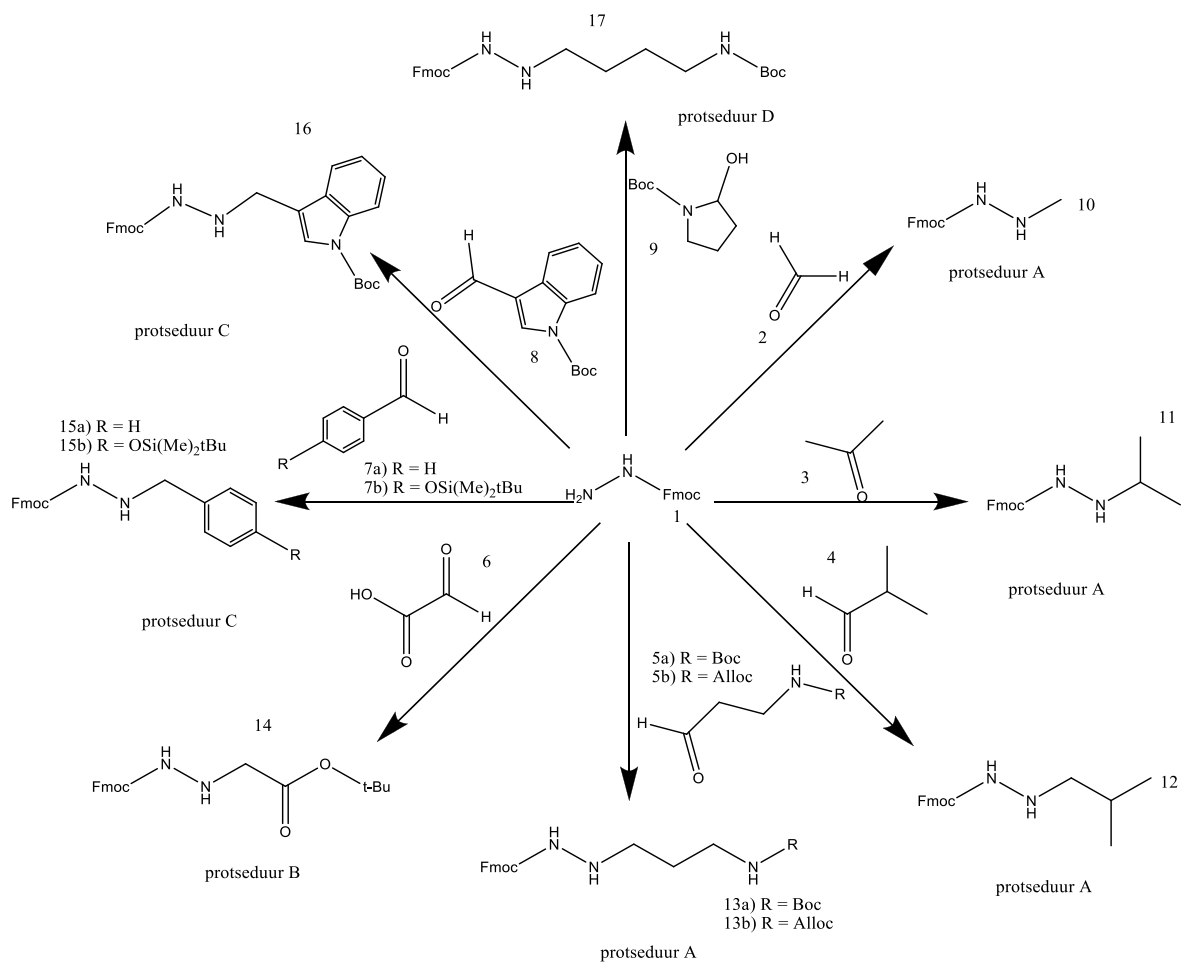
Tänapäeval eelistatakse asendatud hüdrasiini sünteesida läbi reaktsioonide, milles lähteaineks on hüdrasiin ise. Neid meetodeid vaadeldakse lähemalt järgmistes alapeatükkides.

2.2.1 Redutseeriv alküülimine

Redutseeriv alküülimine on kõige sagedamini kasutatav meetod hüdrasiini modifitseerimiseks alküülrühmadega. [22] Selline meetod on hea monoalküülimiseks, sest sellisel alküülimisel kasutatakse juba kaitstud hüdrasiini (PG-NHNH₂) ning viiakse see esimeses etapis aldehüüdi või ketooni kaasabil üle hüdrasooniks ja seejärel alles järgmises etapis redutseeritakse saadud hüdrasoon komplekshüdriidiga (nt NaCNBH₃ või NaBH₄). Seejuures on lisatud ka katalüütiline kogus äädikhapet või Ts-OH-d reaktsiooni oluliseks kiirendamiseks. [17] Aromaatsete ühendite puhul on hüdrasooni redutseerimine aga -CH=N- sideme tõttu raskendatud, sest toimub ulatuslik konjugatsioon aroomatse tuumaga, ning sel juhul on vajalik kasutada Pd/C [23] või Pd(OH)₂/C [24] katalüsaatoreid kõrgendatud rõhul. Sellisel protsetuuril on aga mitteselektiivne iseloom. [25]

NaBH₃CN on üks enam kasutatavaid redutseerivaid agente hüdrasoonide redutseerimisel. Selle eeliseks on väiksem ja selektiivsem redutseerimisvõime kui nt NaBH₄ puhul, mis võimaldab vähendada ülereadutseerimist. NaBH₃CN on eriti selektiivne imiinide ning imiinset -CH=N-sidet sisaldavate ühendite suhtes. [26] Ent ühend ise on mürgine ning sellega kaasneb ka teiste ohtlike tsüanorühma sisaldavate kõrvalproduktide teke.

Põhinedes **skeemil 6** toodud reaktsiooniradadele, saab sünteesida enamike asa-peptiidide jaoks vajalikud prekursorid. [24] Käesolev skeem ei kajasta kõigi asa-aminohapete prekursorite sünteesi.



- aldehyd/keeton (2-8), EtOH 78 °C, 2 h;
- NaBH₃CN, AcOH, THF, püstjahutiga keetmine, 1 h; EtOH, 78 °C, 1 h;
- CCl₃C(OTBu)NH, DCM, püstjahutiga keetmine, 24 h;
- H₂ Pd(OH)₂, 100 Psi, THF, 16 h;
- maskeeritud aldehyd 9, p-Ts-OH, EtOH 78 °C, 2h

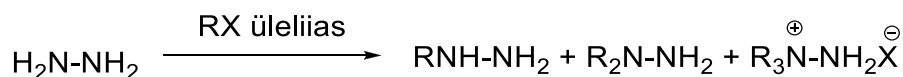
Skeem 6. Asa-aminohapete prekursorite süntees Fmoc-kaitstud hüdrasiinist. Reagendid ja tingimused: protseduur A: i, ii; protseduur B: i-iii; protseduur C: i, iv, protseduur D: v, ii. [24]

Asa-arginiini prekursor on saadud hoopis tahkel kandjal läbi peptiidi viidud ω-N-Alloc kaitstud asa-ornitiini kaitse maha võtmise ja seejärel N,N'-bis-Boc-1-guanüülpürasooliga guanidileerimise kaudu. [24]

Seriinile, treoniinile ning tsüsteiinile vastavaid asa-prekursoreid ei ole seni õnnestunud sünteesida, tulenevalt nende aminoatsetaalsest struktuurist. [24]

2.2.2 Otsene hüdrasiinide alküülimine

Sarnaselt ammoniaagile on hüdrasiine võimalik alküülida alküülhalogeniididega. Taoline alküülimine aga annab enamasti pigem kasinaid monoasendatud produkti saagiseid, kuna toimub ka üleminek di- ning trialküülitud produktideni (**Skeem 7**).



Skeem 7. Hüdrasiini alküülimine alküülhalogeniididega.

Väiksemate asendajate puhul toimub järgmiste alküülrühmade liitumine ebasümmeetriliselt, sest juba moodustunud monoalküülitud derivaadi alküülrühmaga seotud N-aatom on tänu asendusrühma elektrodoorsusele tugevam nukleofiil kui alküülimata NH_2 - rühm. Kui asendaja aga täidab elektronaktseptoorset rolli või on lihtsalt piisavalt suur, et pakkuda steerilist takistust, võib näha ka sümmeetriliselt asendatud produktide teket. Ülealküülitud produktide tekke probleemi annab mõningal määral leevendada hüdrasiini ülehulga kasutamisega.

Mittereageerinud hüdrasiini saab hiljem puhastamise etapis regenereerida. [4]

Alküülimist saab teostada ka monokaitstud hüdrasiinide puhul, mis võimaldab üldjuhul selektiivsemat alküülimist, tulenevalt kas kaitserühma elektronaktseptoorsetest omadustest või steerilistest efektidest, see väljendub karbamaatset tüüpi kaitserühmadega (näiteks Boc-) kaitstud hüdrasiini allüülimisel. [27] Tähelepanu peab pöörama ka kasutatavatele solventidele ning alustele. Alküülimist on hea teostada polaarsetes aprotoonsetes lahustites (vältimaks solvaatkatte teket $\text{NH}_2\text{-NH-PG}$ -le ning sellest tulenevat reksioonivõime kahanemist) nagu DMF, ACN, NMP, [16] ja DMSO [28]. Protoonseid solvente saab samuti edukalt kasutada tugevate alküülivate reagentide puhul. Näiteks 4 ekv Fmoc-NHNH₂ on alküülitud 1 ekv Bn-Br-ga 0.1 M etanooli keskkonnas andes tulemuseks 61% saagise. [16] Sellisel alküülimisel on tähtis aluse juuresolek, et siduda tekkiv vesinikhalogeniid, mis vastasel juhul seostub kaitstud hüdrasiiniga ja vähendab vaba nukleofiili kontsentratsiooni reaktsioonisegus. Alküümisel kasutatava aluse tüübi

valik peab arvestama kaitserühma omadusi. Näiteks tertsiaalsed alküülamiinid TEA ja DiPEA – sobivad hästi Boc- ja Z-kaitserühmadele, ka kõrgematel temperatuuridel, ent alusetundliku Fmoc-rühma puhul toimub kaitserühma eemaldamine. Selle tõttu tuleb Fmoc-kaitstud ühendite korral kasutada nõrgemaid aluseid, näiteks alküülpüridiine. [16]

Boc-NH-NH₂ ja 1 ekv Bn-Br-st lähtuvalt on saadud vastavaid monoalküülitud kaitstud produkte nii ACN, DMF kui ka NMP lahustes. ACN ning NMP andsid madalad saagised (13% ja 14%), kuid DMF-ga saavutati juba 63% saagis. (**Tabel 1**) Tabelist on näha ka, et DiPEA juuresolekul Fmoc-rühm eemaldati ning seetõttu ei saadud produkti. Ilma aluse juuresolekuta on Fmoc-NH-NH₂-st lähtuv saagis 30% ning 1 ekv 2,4,6-trimetüülpüridiini juuresolekul on see tõusnud 68%-ni. [16]

Halogeniididest saavutatakse parimad tulemused jodo-ning bromoüheditega. Kloriidid andsid halvemaid saagiseid tingituna alküülkloriidi kehvast elektrofiilsusest. [16,29] Nii näiteks on Fmoc-kaitstud hüdrasiini reaktsioonil BnCl-ga metanoolis (Fmoc-NH-NH₂ 0.1M lahus) saadud saagiseks 14%, ent kasutades alküüliva agendina BnI-d (0.1 M ACN lahus, 2,4,6-trimetüülpüridiini juuresolekul) oli tulemuseks 74% saagis (vt **Tabel 1**). Parimad tulemused saadi Bn-Br ja Bn-I-ga, valmistades 0.1M lahus ACN-s 2,4,6-trimetüülpüridiini juuresolekul: 74% (Fmoc-NH-NH₂), 79% (Boc-NH-NH₂) ja 64% (Z-NH-NH₂). [16]

Kasutatud PG-NH-NH ₂	Kasutatud Bn-X	Lahusti ja molaarsus	Täiendavad tingimused	Monoalküülitud produkti saagis
1 ekv Boc-NH-NH ₂	1 ekv Bn-Br	0.75 M ACN	Püstjahutiga keetmine 4 h	13%
2 ekv Boc-NH-NH ₂	1 ekv Bn-Br	0.75 NMP	Üleöö rt	14%
3,4 ekv Boc-	1 ekv Bn-Br	2,3 M DMF	70 °C; 5 h	63%

NHNH ₂				
2 ekv Fmoc-NHNH ₂	1 ekv Bn-Br	0.6 M DMF	1.5 ekv DiPEA; 70 °C; 13h	- (Fmoc-rühm eemaldus)
2 ekv Fmoc-NHNH ₂	1 ekv Bn-Br	0.1 M DMF	12 h, rt	30%
3 ekv Fmoc-NHNH ₂	1 ekv Bn-Br	0.1 M ACN	1 ekv 2,4,6-trimetüülpüridiini; püstjahutiga keetmine 6h	68%
3.5 ekv Fmoc-NHNH ₂	1 ekv Bn-Cl	0.1 M CH ₃ OH	Püstjahutiga keetmine 4 h	14%
4 ekv Fmoc-NHNH ₂	1 ekv Bn-I	0.1 M ACN	1 ekv 2,4,6-trimetüülpüridiini; püstjahutiga keetmine 12h	74%

Tabel 1. Otsene alkülimine erinevatel tingimustel. [16]

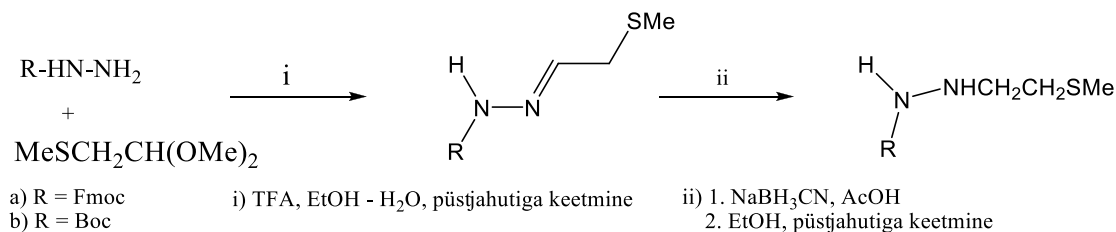
Alküüljodiid aga ei ole kergesti kättesaadavad ning kipuvad lagunema. Seetõttu on neid arukas toota vähem reaktiivsetest alküülhalogeniididest *in situ* katalüütiliste koguste KI või mõne muu anorgaanilise jodiidi juuresolekul. Kasutades Bn-Cl on saadud Boc-, Fmoc- ja Z- kaitstud hüdrasiinide alküülimiste saagiseks 24 h reaktsioonaja jooksul vastavalt 55%, 22% ja 21%, kuid lisades 0.1 ekv KI olid saagised juba 6 h reaktsiooni järel 65%, 53% ja 49%. [29]

2.2.3 Kaitstud monoalküülhüdrasiinide ühe-poti süntees

Redutseeriv alküülimine (vt. **2.2.1, Skeem 6**) on kaheetapiline protsess ning algab hüdrasiini kondensatsioonist karbonüülühendiga, milleks on kas aldehüüd või ketoon. Kondensatsioonile järgneb saadud hüdrasooni redutseerimine, mis kulgeb hea saagisega. Kahjuks on selle väga efektiivse meetodi rakendamine raskendatud kui vastav aldehüüd või ketoon sisaldab nukleofiilseid rühmi ning kipub iseendaga kondenseeruma. Teiseks suureks probleemiks on aldehüüdide kerge oksüdeerumine karboksüülhapeteks, mis raskendab nende säilitamist. Kohati

on võimalik rakendada aldehüüdide kaitsmist, ent see kujutab endast lisaetappe ning mõningatel juhtudel pidurdab redutseeriva alküülimise meetodit. Selle probleemi lahenduseks on ühe-poti süntees lähtuvalt atsetaalidest ja ketaalidest. [22,30]

Selline meetod võimaldab näiteks 2- metüültioatsetaldehüüdi dimetüülatsetaali reaktsioonist Fmoc- või Boc-kaitstud hüdrasiiniga otse saada asa-metioniini kaitstud prekursoreid. Esmalt toimub hüdrasooni moodustumine täpse katalüütilise koguse happe (TFA) juuresolekul 90% etanooli lahuses ning seejärel viiakse toatemperatuuril läbi hüdrasooni redutseerimine lisades NaBH_3CN ja CH_3COOH . (**Skeem 8**) Optimaalseks TFA koguseks Boc-NHNH_2 ja Fmoc- NHNH_2 puhul on leitud vastavalt 0.05 mol ja 0.13 mol 1 mooli atsetaali kohta. Ühe poti-sünteesi puhul on saadud 51% ja 57% saagisega vastavalt Fmoc- ja Boc-kaitstud prekursoreid. Võrreldes kahe-astmelise sünteesiga saadud tulemustega oli Boc-derivaadi saagis ligilähedane, ent Fmoc-derivaadi saagis oli ühe-poti sünteesil pea poole väiksem. Fmoc-kaitstud derivaadi madalam saagikus võib olla põhjustatud selle halvast lahustuvusest etanoolis või Fmoc-rühma eemaldumisest NaHCO_3 sisaldava seguga töötlemisel. [30]



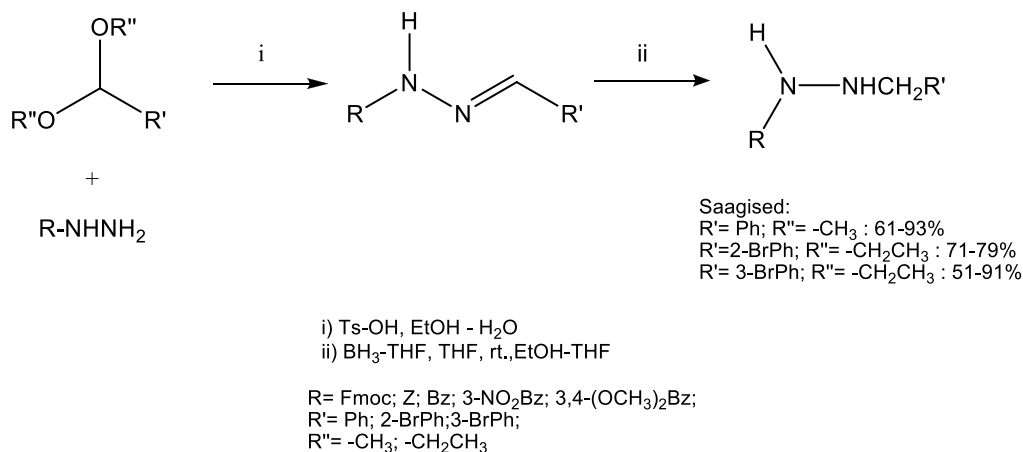
Skeem 8. Asa-metioniini Fmoc- ja Boc-kaitstud prekursori süntees [30]

Taolist ühe-poti sünteesi on edukalt läbi viidud ka erinevate sulfiide, eetreid, nitrile, karbamaate, amiide ning hargnenud ja tsüklilisi alküülrühmi sisaldavate atsetaalidega. On leitud ka, et halogeniide sisaldavate atsetaalide jaoks taoline meetod ei sobi, sest toimub kiire alküülimine ning seejärel täielik lagunemine. Probleemid esinevad ka kaitsmata primaarsete- ja sekundaarsete amiinide puhul, kus aluselisem amino-rühm oma elektronpaariga hakkab karbasaadiga prootonitele konkureerima. Sel juhul tuleb kasutada happelist katalüüti. [22]

Vabanemisel tekkinud boori lisanditest ning äädikhape jäägist tuleb aga arvesse võtta ka kaitserühmade stabiilsust erinevates keskkondades. Hapete suhtes tundlikke, näiteks Boc-

kaitstud ühendite puhul, on soovitatav booriühenditest vabanemiseks etanoolis keetmine vältimaks osalist lagunemist. Mitte niivõrd happetundlike kaitserühmade puhul saab aga efektiivsema tulemuse töödeldes 1.5% HCl lahusega. On leitud, et äädikhape jäägist küllastatud NaHCO₃ vesilahusega vabanemine ei ole vajalik ning alusetundlike (nt Fmoc) kaitserühmade puhul lagunemise tõttu alandab saagist, kuna toimub osaline kaitserühma eemaldumine. [22]

Meetodit annab kasutada ka mõningate teiste alküülhüdrasiinide valmistamiseks, kusjuures bensüülhüdrasiinide puhul töötab katalüütilise happena TFA asemel hästi ka TsOH (lihtsam doseerida) ning redutseerijana kolmekordne 1M BH₃-THF kompleksi üleliig, mis võimaldab vältida NaBH₃CN-st tulenevate HCN ja NaCN lisandite teket. Protseduuri on läbi viidud Fmoc-, Z-, Bz-, 3-NO₂Bz- ja 3,4-(OCH₃)₂Bz-kaitstud hüdrasiinidega ning saagised varieeruvad keskpärastest (51%) kuni väga headeni (93%). [31]



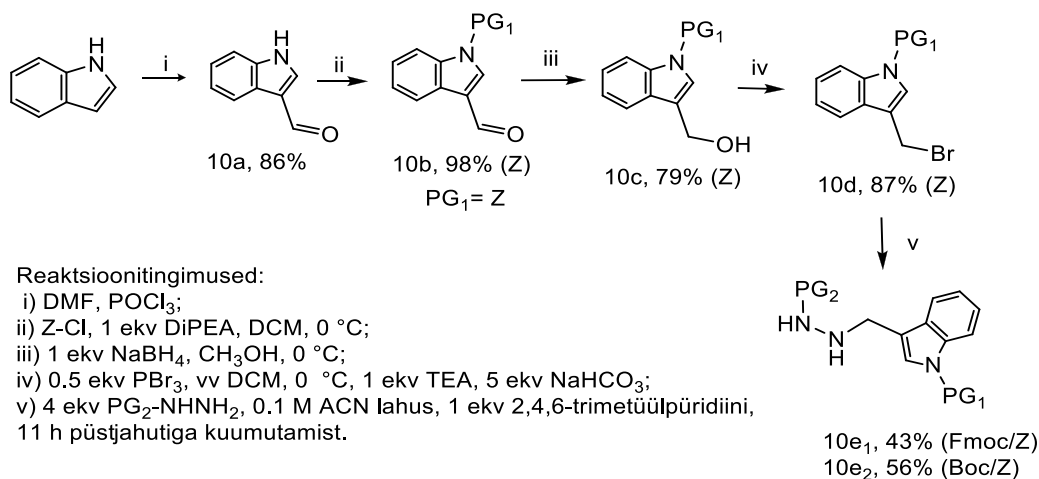
Skeem 9. Mõningate alküülhüdrasiinide sünteesiskeem [31]

2.3 Asa-trüptofaan ning selle süntees

Trüptofaan omab tähtsust erinevate valkude, peptiidide, ensüümide, hormoonide jms biosünteesis.[32] Mitmed trüptofaani derivaadid käituvad antioksidantidena [33] ning samuti on leitud seoseid trüptofaani tasemega inimkehas ning organismi võimega võidelda oksüdatiivse stressi [34] ning depressiooniga [35].

Üheks trüptofaani modifitseerimise variandiks on selle kiraalse süsiniku aatomi asendamine lämmastiku aatomiga. Sellise reaktsiooni tulemusel saadavaid N-kaitstud N'-(3-metüülindolüül)hüdrasiine on varasemalt uuritud potentsiaalsete psühhotroopsete ainetena, peamiselt monoamiinoksüdaasi inhibiitoritena. [36,37] Lisaks on taolisi aineid kasutatud trüptofaani asa-analoogidena. [38] Hiljem on selliseid aineid kasutatud asa-peptiidide sünteesis.

Asa-trüptofaani prekursori lähteaineks on N-kaitstud indool-3-aldehüüd (**Skeem 10, aine 10b**). [24] Prekursori sünteesi on teostatud kasutades redutseerivat alküülimist N-kaitstud indool-3-aldehüüdiga (vt **2.2.1, Skeem 6**, ained 1, 8 ja 16, protseduur C: i) aine 8 - aldehüüd, EtOH, 78°C, ii) H_2 Pd(OH) $_2$, 100 psi, THF, 16 h) ning otsest hüdrasiini N-alküülimist vastava alküülhalogeniidiga (**Skeem 10**). Antud sünteesimeetodi kohaselt valmistatakse indoolist läbi Vilsmeieri reagentiga formüülimise indool-3-aldehüüd, mis seejärel N-kaitstakse. $NaBH_4$ abil viiakse läbi N-kaitstud indool-aldehüüdi karbonüülrühma redutseerimine alkoholiks, millele järgnes radikaalne bromeerimine PBr_3 -ga DCM keskkonnas TEA ja $NaHCO_3$ juuresolekul. Bromeeritud ühendit kasutatakse juba kaitstud hüdrasiini otseseks alküülimiseks (0.1 M hüdrasiini lahus ACN-s, 1 ekv 2,4,6-trimetüülpüridiini juuresolekul). [16]



Skeem 10. Kaitstud hüdrasiini otsene N-alküülimine alküülhalogeniidiga. [16]

3. Eksperimentaalne osa

3.1 Kasutatud aparatuur

- * Tööks kasutati Lach-Ner, Merck, Sigma-Aldrich ja Reahim solvente ja reaktiive.
- * TLC Merck Silica gel 60 F₂₅₄.
- * TMR spektrid mõõdeti Bruker AC 200P (Spectroscopin AG, Switzerland) abil.
- * IP skeptrid mõõdeti PerkinElmer Spectrum BX2 Interspektrumi ATR süsteemiga, ZnSe kristallil.
- * Ainete kolonnkromatograafiliseks lahutamiseks kasutati silikageeli Merck Silica gel 60, mesh 70- 230 (0,063-0,2 mm).

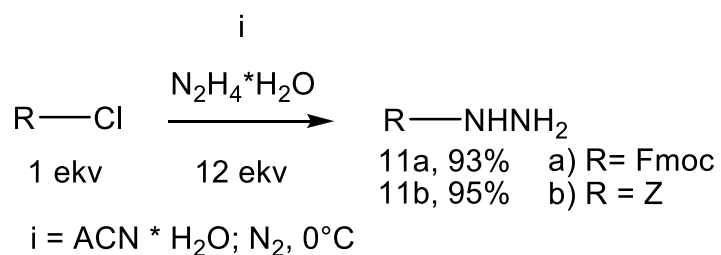
3.2 Reaktiivide ja solventide füüsikalised omadused [39]

Aine	M, g/mol	Kt, °C	St, °C	Tihedus g/ml (20 °C)	n _D ²⁰
ACN	41.05	81-82	-48	0.786	1.344
AcOH	60.05	117-118	16.2	1.049	1.371
Boc ₂ O	218.25	56-57 (0.7 hPa)	20-24	1.02	1.409
DCM	84.93	39.8-40	-97	1.325	1.424
DiPEA	129.24	127	< -50	0.742	1.414
DMF	73.09	153	-61	0.944	1.430

EA	88.11	76.5-77.5	-84	0.902	1.3720
EtOH	46.07	78	-114	0.789	1.3530
Fmoc-Cl	258.70	62-64	-	-	-
Hüdrasiinhüdraat	50.06	120.01	-51.7	1.032	1.36
Indool	117.15	51-54	214	2.32	-
Kloroform	119.38	60.5-61.5	-63	1.492	1.445
NaOH	40	-	318	-	-
POCl ₃	153.33	1.25	105.8	1.645	-
THF	72.11	65-67	-108	0.889	1.407
Z-NHNH ₂	166.18	65-68	-	-	-
Z-Cl	170.59	-	103 (20 mm/Hg)	1.195	1.519

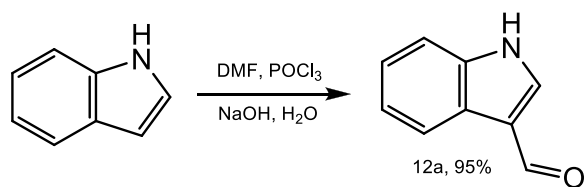
3.3 Sünteeside skeemid

3.3.1 Fmoc-NHNH₂ ja Z-NHNH₂ süntees



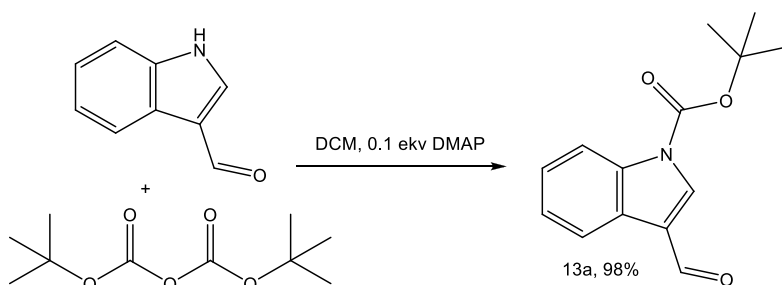
Skeem 11. Fmoc-NHNH₂ (**11a**) ja Z-NHNH₂ (**11b**) sünteesiskeem.

3.3.2 Indool-3-aldehüüdi süntees



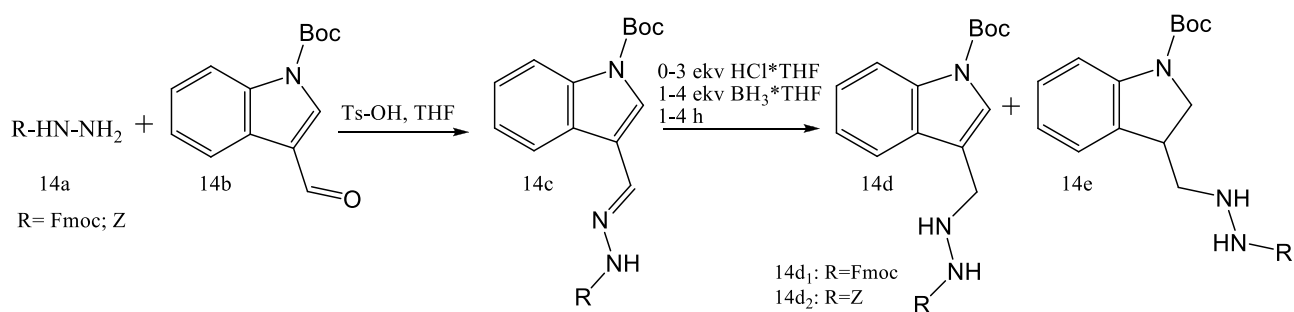
Skeem 12. Indool-3-aldehüüdi sünteesiskeem [40]

3.3.3 N-Boc-Indool-3-aldehüüdi süntees



Skeem 13. N-Boc-indool-3-aldehüüdi sünteesiskeem

3.3.4 N N-Fmoc- ja N-Z-asa-Trp(Boc) prekursorite sünteesi üldine skeem



Skeem 14 N N-Fmoc- ja N-Z-asa-Trp(Boc) prekursorite üldine sünteesiskeem.

3.4 Üldised sünteesimeetodid, solventide ettevalmistus ja sünteesitud ainete iseloomustused

3.4.1 THF kuivatamine

Kuna olemasolev THF oli avatud 3 aastat tagasi, viidi läbi KI-ga peroksiiditest. Võeti väike kogus (mõni ml) THF-i ning sellele lisati KI, lahus värvus õrnalt kollakaks. Sellest võib järeldada, et THF-s leidis vähesel määral peroksiide.

Kolvis olevale THF-le lisati väike kogus (kokku mõni cm³) LiAlH₄ ning pandi üles destillatsioonisüsteem, mis täideti lämmastikuga ning isoleeriti N₂-ga täidetud õhupalli abil. THF-i kuumutati keemiseni, võeti mõne ml-ne eelfraktsioon ning seejärel koguti ~ 65 °C juures põhifraktsioon. Destilleeritud THF-i säilitati lämmastiku all ja Na peal, et niiskustaset ka edaspidi kontrolli all hoida.

3.4.2 HCl lahus THF-s

Kolbi kaaluti 1 ekv NaCl (m=58.258g, n=0.997 mol), sellele lisati väike kogus vett (mõnikümmend ml). NaCl sekka hakati tilkhaaval lisama 95%-list H₂SO₄ lahust (m=154.862, n=1.579 mol). Reaktsioonil tekkiv HCl juhiti läbi H₂SO₄ niiskuselõksu eelnevalt destilleeritud kuiva THF-i lahusesse. THF koos taaraga oli eelkaalutud ning pärast HCl sissejuhtimist saadud masside vahest lähtuvalt arvutati lahuse molaarsus.

3.4.3 Fmoc-NHNH₂ (11a) süntees [24]

N₂H₄ · xH₂O (12 ekv, W=80%) lahustati 30 ml-s vesi-atsetonitriil segus (1:1). Kolb täideti lämmastikuga ning lahus jahutati jäävannil maha. Seejärel lisati tilkhaaval Fmoc-Cl (1 ekv, m=4.035 g, n=0.01260 mol) lahus 250 cm³-s atsetonitriilis ja segati 2h vältel jäävannil. Segu lasti seejärel soojeneda toatemperatuurini ning segati veel 1 h. ACN aurustati pealt ära rotaatoraurustil ning jääk suspendeeriti 50 ml-s vees ning segu jahutati jäävannil. Fmoc-NHNH₂ eraldati filtratsiooni teel ning pesti vaakumfiltril 3 korda ~15 ml jääkülma vee ning siis 3 korda

~15 ml toluleeniga. Ainel lasti õhu käes üleöö kuivada. TLC järgi puhas produkt Fmoc-NH-NH₂ (m=3.698 g, valge kohev tahkis) saadi 93% saagisega. R_f (EA)=0.59

St= 169 °C (St(lit)= 170 °C [41])

IP (cm⁻¹): 3314; 2950; 1692; 1510; 1288; 1189; 1061; 736; 634

¹H TMR (200 MHz; DMSO-d₆) δ: 4.15-4.34 (m, 5H; NH₂ + CH +CH₂ (Fmoc)); 7.30-7.47 (m, 4H; Ar(H)(Fmoc)); 7.72 (d, 2H; J= 7.2 Hz; Ar(H)(Fmoc)); 7.90 (d, 2H; J= 7.4 Hz; Ar(H)(Fmoc)); 8.39 (s; 1H; NH). ¹³C δ: 46.67 (CH); 65.65 (CH₂ (Fmoc)); 120.02; 125.18; 127.00; 127.56; 140.65; 143.77 (Ar(C)); 158.10 (C=O).

3.4.4 Z-NHNH₂ (11b) süntees.

N₂H₄ * xH₂O (12 ekv , W=80%) lahustati 60 ml-s vesi-atsetonitriil segus (1:1) ning jahutati jäävannil maha. Seejärel lisati tilkhaaval Z-Cl (1 ekv, m= 10.521g, n=0.06167 mol) lahus 250 cm³-s atsetonitriilis ja segati 2h vältel N₂ all jäävannil. Reaktsioonisegul lasti toatemperatuuril segada üleöö. ACN arustati rotaatoril kokku ning jääk lahustati DCM-s, pesti 2 korda H₂O ja seejärel küllastunud NaCl lahusega. Vesifaasi ekstraheeriti 3 korda DCM-ga ja ühendatud ekstrakte pesti NaCl lahusega. DCM-i faas kuivatati täiendavalt vv Na₂SO₄ . Kuivatatav produkt eraldati filtrimise teel ning seejärel kuivatati täiendavalt rotaatoraurusti ning vakumeerimise abil. Z-NH-NH₂ (õrnalt kollane tahkis, m=9.694 g, n=0.0584 mol) saadi 94% saagisega.

R_f(EA)=0.47

St= 62-65 °C (St(lit)= 67-69 °C [42])

IP (cm⁻¹): 3331; 3298; 3063; 3026; 2949; 1716; 1516; 1275; 1061; 736; 696.

¹H TMR (200 MHz; CDCl₃) δ: 3.81 (br s; 2H; NH₂); 5.11 (s; 2H; CH₂(Z)); 6.49 (br s; 1H; NH); 7.32 (s; 5H; Ar(H)). ¹³C δ: 67.25 (CH₂); 128.17; 128.30; 128.56; 136.12 (Ar(C)); 158.64 (C=O).

3.4.5 Indool-3-aldehüüdi (12a) süntees [40]

DMF ($m = 18.177$ g, $n = 0.249$ mol) jahutati jäävannil ümarkolvis 0.5h jooksul. Seejärel lisati tilkhaaval 0.5h vältel 4.3 ml POCl_3 ($m = 7.2$ g, $n = 0.047$ mol). Järgnevalt lisati ligi 0.5h jooksul indooli (5.045 g, 0.431 mol) lahus DMF-s. Peale lisamise lõppu segati veel 0.5 h. Seejärel soojendati segu üles 35-40 °C-ni ja segati 1.5h. Peale seda lisati kollasele siirupitaolisele segule 50 cm³ purustatud jääd, segu muutus punaseks. Lisati 20.108g NaOH lahus 100 cm³-s vees ning lahust kuumutati keemiseni. Lahus jahutati toatemperatuurini ning jäeti üleöö külmikusse, mille tulemusel indool-3-aldehüüd kristalliseerus välja. Aine eraldati filtreerimise abil ja pesti 100 cm³-i jääkülma veega ning 20 cm³-i külma 95% EtOH-ga. Seejärel aine kuivatati. Saadi indool-3-aldehüüd (õrnalt beež tahkis; $m = 5.971$ g, $n = 0.0412$ mol) 95% saagisega. $R_f(\text{EA}) = 0.68$

$\text{St} = 193$ °C ($\text{St}(\text{lit}) = 193-195$ °C [43])

IP (cm⁻¹): 3156; 2815; 1630; 1521; 1440; 1391; 1241; 1122; 1084; 786; 756; 638.

¹H TMR (200 MHz; DMSO-d₆) δ : 7.22-7.34 (m; 2H; Ar(H)); 7.56-7.60 (m; 1H; Ar(H)); 8.15-8.19 (m; 1H; Ar(H)); 8.32 (s; 1H; Ar(H)); 9.43 (br s; 1H; NH); 10.00 (s; 1H; HC=O). ¹³C δ : 112.45 ; 118.19; 120.81; 122.05; 123.38; 124.19; 137.17; 138.38 (Ar(C)); 184.89 (HC=O).

3.4.6 N-Boc-indool-3-aldehüüdi (13a) süntees

Indool-3-aldehüüdi ($m = 7.829$ g, $n = 0.540$ mol) kaaluti ümarkolbi ning lahustati 20 ml-s DCM-s. Sellele lisati ~1.05 ekv Boc_2O ($m = 12.351$ g, $n = 0.0575$) ja 0.1 ekv DMAP-i. Kui reaktsioon oli 1 h käinud, tehti TLC veendumaks, et reaktsioon on lõppenud. Segu lahjendati DCM-ga ning pesti 2 korda 10%-se äädikhappe lahusega, 3 korda veega ja küllastunud NaCl lahusega. Veefaasi ekstraheeriti 3 korda DCM-ga, ühendatud ekstrakte pesti küllastunud NaCl lahusega. DCM-s lahused ühendati, kuivatati vv. Na_2SO_4 peal ning DCM aurutati rotaatoraurusti abil. Saadi N-Boc-indool-3-aldehüüd (õrnalt kollane tahkis, $m = 13.054$ g, $n = 0.0533$ mol) 98% saagisega. $R_f(\text{EA}) = 0.88$

$\text{St} = 127-128$ °C ($\text{St}(\text{lit}) = 121-123$ °C [44])

IP (cm⁻¹): 2994; 2811; 2726; 2361; 1739; 1676; 1357; 1239; 1134; 837; 760.

¹H TMR (200 MHz; CDCl₃) δ: 1.71 (s; 9H; 3*CH₃); 7.31-7.45 (m; 2H; Ar(H)); 8.11-8.30 (m; 3H; Ar(H)); 10.07 (s; 1H; HC=O). ¹³C δ: 28.09 (CH₃); 85.64 (C-O) ; 115.12 ; 121.60; 122.12; 124.57; 126.05; 136.01; 136.40; 148.79 (Ar(C)); 185.66 (HC=O)

3.4.7 N-Fmoc- ja N-Z-asa-Trp(Boc) prekursorite sünteesi üldine meetod erinevates tingimustes

Täpsed tingimused: reagentide vahetamine ja redutseeriva etapi kestvus vt (Tabel 1-2).

1 ekv PG-NHNH₂ (PG= Fmoc, Z) kaaluti kolvi, sellele lisati 1.05 ekv N-Boc-indool-3-aldehüüdi lahuseks 3 cm³ THF-s. Lisati katalüütiline kogus (~0.02 ekv) Ts-OH-d. Reaktsioonisegu segati toatemperatuuril 20 min ning reaktsiooni lõppemist kontrolliti TLC abil (vooluti EA/PE ½ suhtes). Kui reaktsioon oli läinud lõpuni (PG-NHNH₂ lõpuni ära reageerinud) lisati 0-3 ekv HCl lahust THF-s, segati 1 min jooksul ning seejärel lisati 1-4 ekv BH₃*H₂O. Segati 1-4 h ning peale segamist pandi peale 6 cm³ EtOH-d ning segati üleöö. Segu kontsentreeriti rotaatoraurustil ning seejärel lahustati ~50 ml EA-s. Esmalt pesti NaHCO₃ lahusega, siis 3 korda H₂O-ga ja seejärel küllastunud NaCl lahusega. Veefaas ekstraheeriti 3 korda EA-ga ning need ekstraktid pesti veel korra H₂O ja küllastunud NaCl-ga ning ühendati orgaanilise faasiga. Kuivatati veel täiendavalt v/v Na₂SO₄ abil. Lahus kontsentreeriti uuesti rotaatoraurusti abil ning jääk puhastati kolonnkromatograafiliselt silikageeliga, voolutiks CHCl₃/EA 6/1 segu.

N-fluorenüülmetüülloksükarbonüül-N'-(3-metüül(N''-Boc-indolüül))hüdrasiin (14d₁)

Saagiste vahemik: 28-84%; R_f(CHCl₃/EA 6/1)= 0.62

IP (cm⁻¹): 3306; 2974; 2897; 1723; 1450; 1369; 1253; 1152; 1086; 855; 738.

¹H TMR (200 MHz; CDCl₃) δ: 1.62 (s; 9H; 3*CH₃); 4.11-4.20 (m.; 4H; CH₂+CH+NH); 4.42 (d; 2H; J= 6.2 Hz; CH₂ (Fmoc)); 6.58 (br s; 1H; NH); 7.19-7.39 (m; 7H; Ar(H)); 7.52 (d; 3H; J= 7.4 Hz; Ar(H)); 7.71 (d; 3H; J=7.4 Ar(H)); 8.14 (d; 1H; J= 8.0 Hz; Ar(H)). ¹³C δ: 28.15 (3*CH₃);

46.65 (CH); 47.17 (CH₂); 67.00 (CH₂ (Fmoc)); 83.61 (C (Boc)); 115.26; 116.56; 119.43; 119.98; 122.66; 124.55; 124.79; 124.96; 127.05; 127.72; 129.90; 135.70; 141.30; 143.67 (Ar(C)); 149.57 (C=O(Boc)); 157.23 (C=O(Fmoc)).

N-bensüülöksükarbonüül-N'-(3-metüül(N''-Boc-indolüül))hüdrasiin (14d₂)

Saagiste vahemik: 30-85%; R_f(CHCl₃/EA 6/1)=0.55

IP (cm⁻¹): 3310; 3116; 2978; 2933; 1727; 1450; 1371; 1253; 1154; 1088; 1043; 853; 744; 695.

¹H TMR (200 MHz; CDCl₃) δ: 1.65 (s; 9H; 3*CH₃); 4.03 (br. s.; 1H; NH); 4.16 (s; 2H; CH₂); 5.15(s; 2H; CH₂ (Z)); 6.45 (br. s; 1H; NH); 7.18-7.34 (m; 7H; Ar(H)); 7.55 (s; 1H; Ar(H)); 7.67 (d; 1H; J= 7.4 Hz; Ar(H)); 8.13 (d; 1H; J= 8.0 Hz; Ar(H)). ¹³C δ: 28.21 (3*CH₃); 46.73 (CH₂); 67.21 (CH₂ (Z)); 83.68 (C (Boc)); 115.29; 116.46; 119.43; 122.70; 124.58; 124.87; 128.15; 128.31; 128.58; 129.92; 135.73; 136.07 (Ar(C)); 149.61 (C=O (Boc)); 157.25 (C=O (Z)).

4. Tulemused ja nende arutelu

4.1 Fmoc- ja Z-hüdrasiini (Fmoc-NHNH₂, 13a; Z-NHNH₂, 13b) süntees

Skeem 11, vt 3.3.1

Hüdrasiinhüdraadi suur ülehulk (12 ekv) on kasutusel, et vältida diatsüülitud produkti ulatuslikku teket. Lisaks seob üleliigne hüdrasiinhüdraat reaktsiooni käigus tekkiva vesinikkloriidi ning moodustub hüdrasiini hüdrokloriid.

Fmoc-Cl ja Z-Cl lisamine tilkhaaval intensiivselt segatavasse reaktsioonisegusse aitab vältida nende lokaalselt suurt kontsentratsiooni, mis soodustaks di-asendatud saaduste teket. Segu jahutamine jäävannil võimaldab hoida segu temperatuuri madala hoolimata eksotermilisest reaktsioonist. Reaktsioonisegu soojenemine soodustaks di-kaitstud produktide teket.

Reaktsioon viidi läbi lämmastiku keskkonnas, et vältida oksüdeerumisest tulenevaid kõrvalprodukte.

Fmoc-hüdrasiini pesti puhastamiseks jääkülma veega, et vabaneda NH₂-NH₂ ülejäägist ning hüdrasiini sooladest. Tolueeniga pesu aitas eemaldada suure osa veest ning lahustas vähempolaarsed di-kaitstud produktid.

Z-hüdrasiini puhul lahustati aine DCM-s ning orgaanilisest faasist eemaldati veega pestes hüdrasiin ja selle soolad. Vesifaas ekstraheeriti mõned korrad DCM-ga, et seal olev Z-hüdrasiin veel täiendavalt kätte saada.

Tänu Fmoc-NHNH₂ kehvale lahustuvusele reaktsiooni segus püsib aine heterofaasis, mis võimaldab ära hoida võimaliku diatsüülimise. Z-NHNH₂ sünteesi puhul on reaktsioonisegu algusest lõpuni homogeenne ning hüdrasiini monokaitsmise kõrvalt jõuab väiksemas ulatuses toimuda tekkinud monokaitstud produkti reaktsioon kaitsva reagendiga. Tulemusel moodustub diatsüülitud produkt, mida on täheldatud TLC peal.

4.2 Indool-3-aldehüüdi (14a) süntees

Skeem 12, vt 3.3.2

Indool-3-aldehüüdi sünteesis on DMF nii solvent kui ka formüüliv reagent. POCl_3 koos DMF-ga annab elektrofiilse katiooni (Vilsmeieri kloroimiinium kompleks). Kompleksi tekkel eralduvad Cl^- ja POCl_2^- , millest tulenevad vesinikloriidhappejäägid, mida hiljem neutraliseeritakse NaOH lahuse lisamisega. Reaktsioon vee ning Vilsmeieri kompleksi vahel on eksotermiline, mistõttu lisatakse vett purustatud jää kujul.

4.3 N-Boc-indool-3-aldehüüdi süntees

Skeem 13, vt 3.3.3

Di-tertbutüüldikarbonaati lisati väikeses üleliias (~1.05 ekv), et tagada reaktsiooni lõpuni minekut. DMAP omab katalüütilist toimet tänu liitumisele Boc_2O C=O rühmale. Selle tulemusel moodustub tugevalt elektrofiilne vaheühend, mis on võimeline reageerima isegi nõrgemate nukleofiilidega nagu seda on indool-3-aldehüüd, mille lämmastiku elektronpaar on delokaliseeritud heterotsüklilises süsteemis.

Aine eraldamisel oli tarvilik kasutada happega töötlust, et eraldada toorproduktist DMAP. Kasutatava happe tugevus oli määrava tähtsusega. Nimelt, tugevamate hapete puhul (nt HCl, H_2SO_4 ja isegi KHSO_4 lahus) võib toimuda Boc-rühma eemaldumine. Seetõttu kasutati töötluseks 10%-list äädikhappe lahust ning saadi väga hed tulemust

4.3 N-Fmoc- ja N-Z-asa-Trp(Boc) prekursorite süntees

Skeem 14, vt 3.3.4

N-Boc-indool-3-aldehüüd lisati väikeses üle-ekvivalendis (~1.05 ekv), et tagada reaktsiooni lõpuni minek. Ts-OH võeti kasutusele katalüütilistel eesmärkidel, tegu on tugeva happega ning tahkel kujul on seda lihtne doseerida. $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ kompleks täidab redutseerija rolli. Hüdrasooni (Skeem 14, 14c) redutseerimine ei ole selektiivne, sest hüdrasoonis on ulatuslik konjugatsioon

ning seetõttu toimub põhiprodukti (**Skeem 14**, 14e) tekke kõrvalt osaliselt ka pürroolse tsükli üleredutseerimine (**Skeem 14**, 14d).

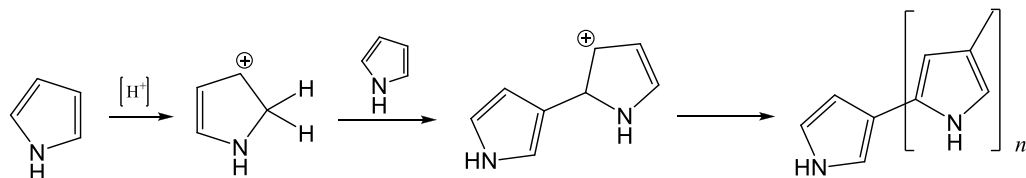
Esimeste katsete käigus, kus teostati saadud hüdrasooni redutseerimine BH_3 3 ekv-ga oli täheldatud konkureeriva üleredutseerumise protsessi toimumine. Oli vaja tõsta antud redutseerimise selektiivsust. Kõige lihtsamaks variandiks tundus saadud hüdrasooni protoneerimine tugeva happega, mis suunab redutseerija liitumise hüdrasooni kaksiksidemele. Töö raames tehtud katstes sai esimesena proovitud HCl , mis on tugevalt happeline, odav ja omab redutseerivaid omadusi. Varasemalt on kirjanduses toodud andmeid HCl rakendamisest alküülasendatud hüdrasiinide sünteesis. Neil juhtudel kasutati lihtsalt happe suurt üleliiga ning redutseerijana kasutati 1.3 ekv $\text{BH}_3 \cdot \text{N}(\text{CH}_3)_3$ [45], mis on hapete suhtes stabiilne, ent mis antud töö raames Fmoc-kaitserühma alusetundlikkuse tõttu ei sobi kasutamiseks. HCl suur üleliig aga toob endaga pürroolsete ühendite polümerisatsiooni. [46]

Reaktsioon viidi läbi erinevate HCl ja BH_3 ekvivalentidega ning uuriti ka ajafaktorit. Reaktsioonitingimuste optimeerimise esimeses etapis varieeriti hüdrasooni protoneerimiseks kasutatud HCl kogust. (**Tabel 2**) Ilma HCl lisandita toimus ulatuslik üleredutseerumine hüdrasinometüülindoliiniks. Oli näha põhiprodukti ning üleredutseerunud produkti teket ligikaudu suhtes üks ühele. **Skeem 14** (põhiprodukt 14d ja üleredutseeritud produkt 14e). Saagised olid kesised ning kohati olid põhiprodukt ning üleredutseerunud produkt halvasti lahutuvad. 1 ekv HCl juuresolekul toimus märgatav saagise tõus. Fmoc- NHNH_2 puhul tõusis saagis 8%-lt (0 ekv HCl juuresolekul, esimese kolonnkromatograafilise puhastamise käigus saadud saagis) 84%-le ning Z- NHNH_2 puhul 19%-lt (samuti 0 ekv HCl juuresolekul, esimese kolonnkromatograafilise puhastamise käigus saadud saagis) 64%-le.

Suuremate HCl ekvivalentide puhul saab täheldada aga väga selget seost suurema happe koguse ning saagise langusega. 2 ekv puhul oli märgata Fmoc- NHNH_2 saagise langust 84%-lt 63%-le ning 3 ekv puhul juba 55%-le. Sarnaselt Z- NHNH_2 puhul toimus langus 64%-lt 50%-le ning 3 ekv juures oli saagis vaid 31%.

HCl lisandiga katsete puhul oli üleredutseerunud produkti moodustunud vähem kui 5% kogusaagisest või ei täheldatud seda üldse.

Selliseid tulemusi saab seletada suurest happekogusest tingitud Boc-kaitserühma eemaldumisest ning polümerisatsiooni toimumisega. Nimelt toimub happelises keskkonnas pürrooli polümeriseerumine, mida on näidatud **Skeemil 15**. Sarnane protsess saab toimuda ka indooli derivaatidega.



Skeem 15. Pürrooli polümeriseerumine happelises keskkonnas.

Reaktsiooni tingimused	Saagis (%)
1 ekv HCl, 1 ekv Fmoc-NHNH ₂ ; *	84
2 ekv HCl, 1 ekv Fmoc-NHNH ₂ ; *	63
3 ekv HCl, 1 ekv Fmoc-NHNH ₂ ; *	55
1 ekv HCl, 1 ekv Z-NHNH ₂ ; *	64
2 ekv HCl, 1 ekv Z-NHNH ₂ ; *	50
3 ekv HCl, 1 ekv Z-NHNH ₂ ; *	31

* = 1.05 ekv N-Boc-indool-3-aldehüüdi, lahusti THF, 3 ekv BH₃, rt, 3 h

Tabel 2. Kasutatud HCl koguse mõju redutseerimise reaktsioonisaagisele.

Järgmisena varieeriti BH₃ ekvivalentide arvu. (**Tabel 3**) Reaktsiooni viidi läbi juba varasemas etapis optimeeritud 1 ekvivalendi HCl-i juuresolekul.

Kuni 3 BH₃ ekvivalendini on näha väga ilmselget saagise tõusu redutseerija koguse suurendamisel. 1 ekv BH₃ puhul ei olnud enam hüdrasoonist ära reageerinud ning tulemuseks

saadi raskesti lahutuvad hüdrasooni-põhiprodukti segud. Fmoc-NHNH₂ madal saagis tuleneb sellest, et osa põhiproduktist jäi raskesti lahutuvasse segusse hüdrasooniga, Z-NHNH₂ puhul segu lahutus veel väiksemal määral. 2 ja 3 BH₃ ekvivalendiga läbi viidud reaktsioonide saagiste vahe on ligi kahekordne. Fmoc-NHNH₂ korral tõusis saagis 30%-lt 84%-ni, Z-NHNH₂ näitas tõusu 28%-lt 64%-ni. 3-lt ekvivalendilt 4-le üleminekul oli visuaalselt TLC plaadil küll reageerimata hüdrasooni koguse langust märgata, ent erilist saagise muudatust enam ei ole. Seega optimaalseks võiks pidada 3 ekv BH₃*THF kasutamist.

Reaktsiooni tingimused	Saagis (%)
1 ekv BH ₃ , 1 ekv Fmoc-NHNH ₂ ; **	12
2 ekv BH ₃ , 1 ekv Fmoc-NHNH ₂ ; **	30
3 ekv BH ₃ , 1 ekv Fmoc-NHNH ₂ ; **	84
4 ekv BH ₃ , 1 ekv Fmoc-NHNH ₂ ; **	79
1 ekv BH ₃ , 1 ekv Z-NHNH ₂ ; **	- ¹
2 ekv BH ₃ , 1 ekv Z-NHNH ₂ ; **	28
3 ekv BH ₃ , 1 ekv Z-NHNH ₂ ; **	64
4 ekv BH ₃ , 1 ekv Z-NHNH ₂ ; **	60

** = 1.05 ekv N-Boc-indool-3-aldehüüdi, lahusti THF, 3 ekv BH₃, 1 ekv HCl, rt, 3 h.

Tabel 3. Kasutatud BH₃ koguse mõju redutseerimise reaktsioonisaagisele.

¹ Esmases kolonnis ei õnnestunud lahutada hüdrasooni-põhiprodukti segu.

Viimasena varieeriti reaktsiooni redutseerimise etapi pikkust. (**Tabel 4**) Reaktsiooniks kasutati 1 ekv HCl ning 3 ekv BH₃. Fmoc-NHNH₂ korral erilist saagiste muutust ajas ei saa täheldada, ent visuaalselt TLC järgi reageerimata hüdrasooni kogus 1 tunnist 4 tunnini pidevalt langes. 2 h ning 3 h vaheline hüdrasooni koguse muutus oli veel märgatavas järgus, ent 3 ning 4 tunni vaheline hüdrasooni koguse vahe oli juba pigem väike. Seega reaktsiooni lõpuni kulgemise mõttes võib 3

h pidada optimaalseks ajaks. Z-NHNH₂ puhul ilmnes aga teistsugune dünaamika. Kuigi toimus samuti visuaalselt hüdrasooni koguse langemine iga tunniga, siis saagis iga tunniga hoopis langes (ligi 10% tunnis). Nii 1 h saagis oli 85%, 2 h – 73%, 3 h – 64% ning 4 h – 53%. Tõenäoliselt võis selle põhjuseks olla Z-kaitserühma eemaldumine tänu keemilisele hüdrogeenimisele nendes tingimustes. Optimaalseks võiks sel juhul pidada lühimat reaktsiooni aega – 1 h.

Reaktsiooni tingimused	Saagis (%)
1 h, 1 ekv Fmoc-NHNH ₂ ; ***	80
2 h, 1 ekv Fmoc-NHNH ₂ ; ***	79
3 h, 1 ekv Fmoc-NHNH ₂ ; ***	84
4 h, 1 ekv Fmoc-NHNH ₂ ; ***	79
1 h, 1 ekv Z-NHNH ₂ ; ***	85
2 h, 1 ekv Z-NHNH ₂ ; ***	73
3 h, 1 ekv Z-NHNH ₂ ; ***	64
4 h, 1 ekv Z-NHNH ₂ ; ***	53

*** = 1.05 ekv N-Boc-indool-3-aldehüüdi, lahusti THF, 1 ekv HCl, 3 ekv BH₃, rt,

Tabel 4. Redutseerimise reaktsiooni ajalise pikkuse mõju reaktsioonisaagisele.

Saadud tulemustest võib järeldada, et Fmoc-NHNH₂ puhul on optimaalseteks tingimusteks 1 ekv HCl juuresolek, 3 ekv BH₃*THF kompleksi kasutamine redutseerijana ning 3 h pikkune redutseerimisreaktsiooni pikkus. Z-NHNH₂ juhul on seda 1 ekv HCl juuresolek, 3 ekv kompleksi kasutamine ning 1 h pikkune reaktsioon.

Kokkuvõte

Käesoleva töö eesmärgiks oli arendada välja senisest lihtsam ja paremaid saagiseid andev N-Boc-indool-3-aldehüüdi kaitstud hüdrasoonide redutseerimise meetod Fmoc- ja Z-kaitstud asa-Trüptofaani prekursorite sünteesiks.

Protoneerimata hüdrasooni redutseerimisel täheldati produkti ulatuslikku üleredutseerumist vastavaks indoliiniks (redutseerus indooli püroolse tsükli kaksikside). Tulemusena moodustus ligikaudu 1:1 suhtes hüdrasinometüülindooli ja indoliini segu. Redutseerimise selektiivsuse parandamiseks kasutati happega protoneerimist. Samuti teostati antud meetodi optimisatsioon.

Esmalt uuriti hüdrasoonide protoneerimiseks kasutatud HCl-i koguse mõju redutseerimise reaktsioonile. Tulemusteks saadi, et parimad tulemused saavutab 1 ekvivalendi HCl-i juuresolekul ning 3 ekv $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ -i kasutades. Suuremate HCl ekvivalentide puhul täheldati hoopis saagise langust, tõenäoliselt tulenevalt happekatalüütilisest polümerisatsioonist. Nendes tingimustes üleredutseeritud produkti kogused ei ületa 5%.

Teiseks uuriti $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ kompleksi koguse mõju. Katsete käigus täheldati, et 1 ja 2 ekv puhul redutseerimise reaktsioon ei olnud suures osas lõpuni läinud, jättes reaktsiooni segusse ka märgatava koguse hüdrasooni. Optimaalseks redutseerija koguseks osutus 3 ekvivalenti. Edaspidine redutseerija koguse kasvatamine ei andnud märgatavat efekti.

Viimaseks optimeeriti redutseerimiseks vajaminevat aega. Tulemusena täheldati, et Fmoc-NHNH₂ korral taandamise reaktsiooni lõpuni kulgemise jaoks oli vaja 3 h ning Z-NHNH₂ puhul osutus optimaalseks 1 h pikkune redutseerimine. Pikema redutseerimise aja jooksul toimus Z-kaitstud ühendi puhul märgatav ning astmeline produkti saagise langemine.

Kokkuvõtlikult, teostatud töö tulemusel õnnestus arendada mugav, lihtne ning regioselektiivne Fmoc- ning Z-kaitstud asa-trüptofaani prekursorite sünteesimeetod.

Summary

The goal of this thesis was to develop an easier and more convenient method for reducing N-Boc-indole-3-aldehyde protected hydrazones for the synthesis of Fmoc- and Z-protected aza-Tryptophan precursors.

During the reduction of a non-protonated hydrazone it was noted that extensive overreducing into the corresponding indoline occurred (the double bond in pyrrole was reduced). As a result a mixture of hydrazinomethylindole and indoline was formed approximately in a ratio of 1:1. To improve the selectivity of this process, protonation by acid was used. Subsequently the method was optimized.

Firstly, the effect of the amount of HCl applied for the hydrazone protonation was studied. It was concluded that the best results were achieved using 3 equivalents of $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ complex in the presence of 1 equivalent of HCl. In the case of larger amounts of HCl it was apparent that the yield decreased, likely due to acid catalyzed polymerization. In these conditions the amount of over-reduced product did not exceed 5 %.

Secondly, the effect of the used amount of $\text{BH}_3 \cdot \text{THF}$ complex was examined. During the study it was observed that when only 1 or 2 equivalents were used, the reaction had not gone to completion and a noticeable amount of hydrazone remained unreacted. Optimal amount of the reducing agent turned out to be 3 equivalents. Further increasing the amount of the agent used had no noticeable effect on the yield.

Lastly, the duration of the reduction reaction was optimized. It was revealed, that the reduction reaction involving Fmoc-NHNH₂ took 3 h to go to completion. At the same time, in the case of Z-NHNH₂ 1 h long reduction was concluded as the most optimal, since with longer reaction times there was a noticeable gradual decrease in the yield of the desired product.

In conclusion, as a result of this study a convenient, easy and regioselective method for the synthesis of Fmoc- and Z-protected aza-Tryptophan precursors was developed.

Tänuavaldus

Soovin tänada oma juhendajat Anton Mastitskit, tema kannatlikkuse ning hoolika juhendamise eest, nii eksperimentide läbiviimisel kui ka diplomitöö valmimisel.

Tänan kõiki orgaanilise keemia õppetooli kolleege, kes jagasid kasulikku nõu ja abi.

Suured tänud ka lähedastele ja sõpradele, kes olid selle töö valmimisel toeks.

Kasutatud kirjandus

1. F., R. E. Hydrazine and Its Derivatives. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. November 19, 2004.
2. P. Arkhipov, O.; L. Bugaenko, V.; Kabakchi, S.; I. Pashevich, V. *Thermal and Radiation Characteristics of Hydrazine in the Primary Loop of Nuclear Power Plants with Water-Cooled, Water-Moderated Reactors*; 1997; Vol. 82.
3. Nigst, T. A.; Antipova, A.; Mayr, H. Nucleophilic Reactivities of Hydrazines and Amines: The Futile Search for the α -Effect in Hydrazine Reactivities. *J. Org. Chem.* **2012**, 77 (18), 8142–8155.
4. Ragnarsson, U. Synthetic Methodology for Alkyl Substituted Hydrazines. *Chem. Soc. Rev.* **2001**, 30 (4), 205–213.
5. Campbell, T. W.; Foldi, V. S.; Farago, J. Condensation Polymers from Diisocyanates with Dihydrazides and Hydrazine. *J. Appl. Polym. Sci.* **1959**, 2 (5), 155–162.
6. Gausman, H. W.; Rhykerd, C. L.; Hinderliter, H. R.; Scott, E. S.; Audrieth, L. F. Fungicidal Properties of Some Carbonic and Thiocarbonic Acid Derivatives of Hydrazine. *Bot. Gaz.* **1953**, 114 (3), 292–296.
7. Schoene, D. L.; Hoffmann, O. L. Maleic Hydrazide, a Unique Growth Regulant. *Science* (80-.). **1949**, 109 (2841), 588–590.
8. ROBITZEK, E. H.; SELIKOFF, I. J. Hydrazine Derivatives of Isonicotinic Acid (Rimifon, Mar-silid) in the Treatment of Active Progressive Caseous-Pneumonic Tuberculosis. A Preliminary Report. *Am. Rev. Tuberc. Pulm. Dis.* **1952**, 65 (4), 402–428.
9. DS, R.; Nies, A.; Ravaris, C.; JO, I.; Bartlett, D. Clinical Pharmacology of Phenelzine. *Arch. Gen. Psychiatry* **1978**, 35 (5), 629–635.
10. JT, D.; EL, G.; Zisook, S.; JE, O. An Efficacy Study of Isocarboxazid and Placebo in Depression, and Its Relationship to Depressive Nosology. *Arch. Gen. Psychiatry* **1988**, 45

- (2), 120–127.
11. W OBLATH, R.; C GRIFFITH, G. *Treatment of Angina Pectoris with a New Monoamine Oxidase Inhibitor, Pivalybenzhydrazine*; 1961; Vol. 6.
 12. Rubin, L. J.; Peter, R. H. Oral Hydralazine Therapy for Primary Pulmonary Hypertension. *N. Engl. J. Med.* **1980**, 302 (2), 69–73.
 13. Kumar, A. R. V.; Renaudin, J.; Wilson, C. B.; Boldrey, E. B.; Enot, K. J.; Levin, V. A. Procarbazine Hydrochloride in the Treatment of Brain Tumors. *J. Neurosurg.* **1974**, 40 (3), 365–371.
 14. Proulx, C.; Sabatino, D.; Hopewell, R.; Spiegel, J.; García Ramos, Y.; Lubell, W. D. Azapeptides and Their Therapeutic Potential. *Future Med. Chem.* **2011**, 3 (9), 1139–1164.
 15. Quibell, M.; Turnell, W. G.; Johnson, T. Synthesis of Azapeptides by the Fmoc/tert-Butyl/polyamide Technique. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1993**, No. 22, 2843.
 16. Mastitski, A.; Haljasorg, T.; Kipper, K.; Järv, J. Synthesis of Aza-Phenylalanine, Aza-Tyrosine, and Aza-Tryptophan Precursors via Hydrazine Alkylation. *Proc. Est. Acad. Sci.* **2015**, 64 (2), 168.
 17. Freeman, N. S.; Hurevich, M.; Gilon, C. Synthesis of N'-Substituted Ddz-Protected Hydrazines and Their Application in Solid Phase Synthesis of Aza-Peptides. *Tetrahedron* **2009**, 65 (8), 1737–1745.
 18. Zhang, R.; Durkin, J. P.; Windsor, W. T. Azapeptides as Inhibitors of the Hepatitis C Virus NS3 Serine Protease. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, 12 (7), 1005–1008.
 19. Ekegren, J. K.; Unge, T.; Safa, M. Z.; Wallberg, H.; Samuelsson, B.; Hallberg, A. A New Class of HIV-1 Protease Inhibitors Containing a Tertiary Alcohol in the Transition-State Mimicking Scaffold. *J. Med. Chem.* **2005**, 48 (25), 8098–8102.
 20. Lee, T.-W.; Cherney, M. M.; Huitema, C.; Liu, J.; James, K. E.; Powers, J. C.; Eltis, L. D.; James, M. N. G. Crystal Structures of the Main Peptidase from the SARS Coronavirus Inhibited by a Substrate-like Aza-Peptide Epoxide. *J. Mol. Biol.* **2005**, 353 (5), 1137–

1151.

21. Jean-Pierre, S.; Paul, B. Hydrazine. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. June 15, 2001.
22. Mastitski, A.; Niinepuu, S.; Haljasorg, T.; Järv, J. One-Pot Synthesis of Protected Alkylhydrazines from Acetals and Ketals. Scope and Limitations. *Org. Prep. Proced. Int.* **2015**, 47 (6), 490–498.
23. Melendez, R. E.; Lubell, W. D. Aza-Amino Acid Scan for Rapid Identification of Secondary Structure Based on the Application of N-Boc-Aza-Dipeptides in Peptide Synthesis. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126 (21), 6759–6764.
24. Boeglin, D.; Lubell, W. D. Aza-Amino Acid Scanning of Secondary Structure Suited for Solid-Phase Peptide Synthesis with Fmoc Chemistry and Aza-Amino Acids with Heteroatomic Side Chains. *J. Comb. Chem.* **2005**, 7 (6), 864–878.
25. Dutta, A. S.; Morley, J. S. Polypeptides. Part XIII. Preparation of [Small Alpha]-Aza-Amino-Acid (Carbamic Acid) Derivatives and Intermediates for the Preparation of [Small Alpha]-Aza-Peptides. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1975**, No. 17, 1712–1720.
26. Carey, F. A.; Sundberg, R. J. *Advanced Organic Chemistry: Part B: Reaction and Synthesis*; Advanced Organic Chemistry; Springer US, 2010.
27. Tšupova, S.; Mäeorg, U. Pd-Catalyzed Regioselective Allylation of Mono- and Disubstituted Hydrazines. *Org. Lett.* **2013**, 15 (13), 3381–3383.
28. Ragnarsson, U.; Grehn, L.; Koppel, J.; Loog, O.; Tšubrik, O.; Bredikhin, A.; Mäeorg, U.; Koppel, I. Acidity of Di- and Triprotected Hydrazine Derivatives in Dimethyl Sulfoxide and Aspects of Their Alkylation. *J. Org. Chem.* **2005**, 70 (15), 5916–5921.
29. Mastitski, A.; Abramov, A.; Kruve, A.; Järv, J. Potassium Iodide Catalysis in the Alkylation of Protected Hydrazines. *Proc. Est. Acad. Sci.* **2017**, 66 (1736–7530), 10–17.
30. Mastitski, A.; Jarv, J. One-Pot Synthesis of Fmoc- and Boc-Protected Aza-Methionine Precursors from 2-Methylthioacetaldehyde Dimethyl Acetal. *Org. Prep. Proced. Int.*

- 2014**, 46 (6), 559–564.
31. Mastitski, A.; Niinepuu, S.; Haljasorg, T.; Järv, J. One-Pot Synthesis of Protected Benzylhydrazines from Acetals. *Org. Prep. Proced. Int.* **2018**, xx (xx).
 32. Brnardic, E. J. Synthesis of Aza-Tryptophan Derivatives . *Electron. Theses Diss.* 3697. **1998**.
 33. Reiter, R. J.; Tan, D.; Cabrera, J.; D'Arpa, D. Melatonin and Tryptophan Derivatives as Free Radical Scavengers and Antioxidants. In *Tryptophan, Serotonin, and Melatonin: Basic Aspects and Applications*; Huether, G., Kochen, W., Simat, T. J., Steinhart, H., Eds.; Springer US: Boston, MA, 1999; pp 379–387.
 34. Peyrot, F.; Ducrocq, C. Potential Role of Tryptophan Derivatives in Stress Responses Characterized by the Generation of Reactive Oxygen and Nitrogen Species. *J. Pineal Res.* **2008**, 45 (3), 235–246.
 35. Delgado, P. L.; Miller, H. L.; Salomon, R. M.; Licinio, J.; Krystal, J. H.; Moreno, F. A.; Heninger, G. R.; Charney, D. S. Tryptophan-Depletion Challenge in Depressed Patients Treated with Desipramine or Fluoxetine: Implications for the Role of Serotonin in the Mechanism of Antidepressant Action. *Biol. Psychiatry* **1999**, 46 (2), 212–220.
 36. Alemany, Antonio; Bernabe Pajares, Manuel; Fernandez Alvarez, Eldiberto; Lora-Tamayo, Manuel; Nieto Lopez, O. Potential Psychotropic Agents. II. Synthesis of 1-Acyl-2-(Indolylmethylene)hydrazines and Their Activity in Vitro as Monoamine Oxidase Inhibitors. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1967**, No. 3, 780–786.
 37. Bernabe, M.; Fernandez-Alvarez, E.; Lora-Tamayo, M.; Nieto, O. Potential Psychotropes. V. Inhibitors of Monoamine Oxidase. Preparation and Study of Various (3-Indolylalkyl)hydrazines. *Bull. Soc. Chim. Fr.* **1971**, No. 5, 1882–1887.
 38. Swaminathan, S.; Narasimhan, K. Synthesis of Ethyl 1-Acetyl-2-(3-Indolylmethyl)carbazate. An Analog of α -Acetyltryptophan Ethyl Ester. *Indian J. Chem.* **1964**, 2 (10), 423–424.

39. <http://www.sigmaaldrich.com/finland.html>;
40. James, P. N., Snyder, H. . Indole-3-Aldehyde. *Org. Synth.* **1959**, 39 (September), 30.
41. Carpino, L. A.; Han, G. Y. 9-Fluorenylmethoxycarbonyl Amino-Protecting Group. *J. Org. Chem.* **1972**, 37 (22), 3404–3409.
42. Hofmann, K.; Lindenmann, A.; Magee, M. Z. .; Khan, N. H. Polypeptides. III. Novel Routes to α -Amino Acid and Polypeptide Hydrazides. *J. Am. Chem. Soc.* **1952**, 74, 470–476.
43. Ryson, F. .; Shaw, J. T. Carbonylation and Hydroformylation Reactions with Certain Indole Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 2538–2540.
44. WOLMAN, Y. A Simple Synthesis of 1-T-Butyloxycarbonyl-3-Formylindole. *Synthesis (Stuttg)*. **1975**, 1975 (11), 732.
45. Perdicchia, D.; Licandro, E.; Maiorana, S.; Baldoli, C.; Giannini, C. A New “One-Pot” Synthesis of Hydrazides by Reduction of Hydrazones. *Tetrahedron* **2003**, 59 (39), 7733–7742.
46. Юровская, М. А. *Химия Ароматических Гетероциклических Соединений*; Бином Москв, 2015.

Lisa

TMR spektrid

Aine nimetus	Aine kood
Fmoc-hüdrasiin	11a
Z-hüdrasiin	11b
Indool-3-aldehüüd	12a
N-Boc-indool-3-aldehüüd	13a
N-fluorenüülmetsükloksükarbonüül-N'-(3-metüül(N''-Boc-indolüül))hüdrasiin	14d ₁
N-bensüülmetsükloksükarbonüül-N'-(3-metüül(N''-Boc-indolüül))hüdrasiin	14d ₂

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Kati Vahter

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose
**Regioselektiivse Fmoc- ja Z-kaitstud asa-Trüptofaani prekursorite sünteesimeetodi
väljatöötamine ja optimeerimine**

mille juhendaja on Anton Mastitski,

- 1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni 06.06.2020 autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
 - 1.2.üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
 3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 30. mai, 2018.